Aus der Medizinischen Universitäts-Poliklinik
Würzburg.

Fehlergrenzen und Fehlerquellen bei der Färbeindexbestimmung des Blutes

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Bernhard Siegler
aus Würzburg.

1936

Dissertationsdruckerei und Verlag Konrad Triltsch, Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät Würzburg.

Referent:

Priv.-Doz. Dr. med. Schöne.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Auf dem Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin im April 1934 machte B o h n e k a m p folgende Ausführungen: „Angesichts der Tatsache, daß wir bei vielen weniger wichtigen Stoffen z. B. Cabium, Kalium, Jod, Blutzucker recht genaue Angaben in der Klinik zu machen gewohnt sind, ist es ein Unding und sollte künftig ausgeschlossen werden, daß wir bei einem so vorzugsweise wichtigen Stoff wie dem Hämoglobin uns mit mehr oder weniger groben schätzungsweisen Angaben begnügen." S c h i l l i n g machte ebenfalls auf diesem Kongreß Ausführungen, wie er bei einem Gutachtenfall bei beliebigem Austausch der Maßröhrchen, 20 ccm-Pipetten und der gefärbten Glasstäbe von 5 neuen Apparaten (Sahli-Leitz Prinzip) alle Zwischenwerte von 94—120% Hämoglobin bekam.

Wenn nun schon bei der Hämoglobinbestimmung „schätzungsweise Angaben" mit in Kauf genommen werden müssen, so möchte sich doch einmal die Arbeit lohnen, zu untersuchen, welche Fehlerquellen und -grenzen man überhaupt bei der Färbeindexbestimmung hat, die doch nicht nur von der Hämoglobinbestimmung allein abhängig ist, sondern ebenso von der Erythrocytenbestimmung, die allein schon wegen des Arbeitens mit großen Verdünnungen Ungenauigkeiten von vornherein wahrscheinlich macht. Aus diesen Überlegungen heraus wurden nun die folgenden Versuche unternommen, um die Fehlergrenzen und Fehlerquellen bei der Färbeindexbestimmung des Blutes festzustellen.

Zuerst wurde mit der Erythrocytenbestimmung begonnen. Die Gewinnung des Materials erfolgte — nach tüchtigem Säubern der Fingerkuppe mit Äther, gutem Abreiben und Trocknen, um Schmutz und besonders Schweiß zu entfernen — mittels eines tiefen Einstichs mit der Frankschen Nadel. Nach dem Einstich wurde das s p o n t a n e Hervorquellen des Blutes abgewartet; sodann wurde mittels zweier gewöhnlicher Pipetten das Blut zur Erythrocytenbestimmung (und sofort anschließend mit den beiden Hämoglobinpipetten Blut für die beiden Apparate zur Hämoglobinbestimmung abgenommen) gewonnen. Alsdann wurde die Zählung der Erythrocyten in der Zeiß-Thoma-Zählkammer folgendermaßen vorgenommen: Wie bereits erwähnt, wurden zwei Pipetten zur Zählung der Erythrocyten abgenommen. Die erste Pipette sei mit I, die zweite mit II bezeichnet. Pipette I wurde nun leicht durchgeschüttelt nach der Vorschrift von Naegeli 2 bis 3 Minuten lang, die 3 ersten Tropfen der Pipette wurden nicht verwendet, erst mit dem 4. Tropfen wurde die Kammer gefüllt

und fast die ganze Kammer durchgezählt. Dann wurde die Kammer gesäubert, der Rest in der Pipette nochmals durchgeschüttelt und wiederum mit dem 4. Tropfen die Kammer gefüllt und wiederum ausgezählt. Von Pipette I wurden also zwei Zählungen vorgenommen, die mit I_1 und I_2 bezeichnet seien. Die erste Zählung (I_1) wurde nun als Ausgangspunkt zur Aufstellung der Differenzenreihe (die zweite Zählung könnte ebensogut als Ausgangspunkt genommen werden). Wir erhalten positive und negative Abweichungen, je nachdem Zählung 1 oder 2 überwiegt; ein Beispiel möge dies erläutern.

Zählung I_1 hat z. B. 4,5 Millionen Erythrocyten ergeben, die Zählung I_2 4,3 Millionen Erythrocyten. Die Differenz auf I_1 als Ausgangspunkt bezogen beträgt + 0,2 Millionen Erythrocyten oder aber die Zählung I_1 ergab 4,3 Millionen Erythrocyten, Zählung I_2 jetzt 4,5 Millionen, so beträgt die Differenz auf I_1 als Ausgangspunkt bezogen — 0,2 Millionen Erythrocyten.

Das Ergebnis der Differenzen für die Zählung I ergab nun folgende Reihe in Millionen Erythrocyten ausgedrückt:

— 0,6	— 0,5	— 0,4	— 0,3	— 0,2	— 0,1	+ 0	+ 0,1	+ 0,2
1	1	2	7	10	19	26	17	

+ 0,2	+ 0,3	+ 0,4	+ 0,5	+ 0,6
7	3	3	0	

Die untere Reihe gibt die Anzahl der Fälle an. Schreibt man die Reihe ohne Rücksicht auf positive oder negative Differenzen, so erhält man:

0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	Zahl der Erythrocyten in Million.
49	27	14	5	4	1		Zahl der Fälle

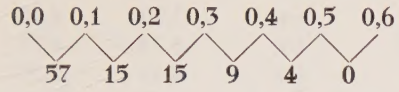
Bei hundert Fällen traten also innerhalb einer Pipette (I) bei zweimaliger Zählung Schwankungen auf bis zu 600.000 Erythrocyten in einem Falle.

Wie oben wurde ebenfalls bei Pipette II verfahren mit zwei Zählungen II_1 und II_2. Als Ausgangspunkt wurde auch hier die erste Zählung II_1 genommen. Die Differenzen ergaben nun folgende Reihe:

— 0,7	— 0,6	— 0,5	— 0,4	— 0,3	— 0,2	— 0,1	+ 0	+ 0,1
	1	7	6	6	26	4	27	

+ 0,1	+ 0,2	+ 0,3	+ 0,4	+ 0,5
9	9	2	3	

Oder die Reihe ohne Rücksicht auf positive und negative Schwankung aufgezeichnet:



Die höchste Differenz ist bei Pipette II 500.000 Erythrocyten bei 4 Fällen. Bei Pipette I waren es in einem Falle 600.000 Erythrocyten. Die Fehlergrenzen sind also ziemlich übereinstimmend, die Unterschiede nicht bedeutend. Deutlicher zeigt die Übereinstimmung noch die Berechnung der Mittelwerte und der Standardabweichungen (vorgenommen nach W. Johansen).

Die Berechnung des Mittelwertes der Differenzen ergibt bei Pipette I + 0,03 und bei Pipette II + 0,06 Millionen Erythrocyten. Die Standardabweichung oder Streuung (gleich Quadratwurzel des durchschnittlichen Quadrats aller Abweichungen vom Mittel) beträgt bei der Differenz innerhalb der Pipette I 0,21908, bei der Pipette II 0,22457 Millionen Erythrocyten.

Wie die Mittelwerte und Standardabweichungen ergeben, ist die Fehlergrenze innerhalb der beiden Pipetten bei zweimaliger Zählung ohne große Abweichung: 0,03 bis 0,06 Millionen im Mittel, mit einer Abweichung von 0,21908 bis 0,22457 Millionen.

Von den beiden Zählungen innerhalb der einzelnen Pipetten wurde nun der Durchschnittswert genommen PI $\frac{1+2}{2}$ und PII $\frac{1+2}{2}$ und diese ebenfalls als Differenzen miteinander verglichen. Ausgangspunkt war der Mittelwert von Pipette I. Die Differenz wurde ausgedrückt in Millionen Erythrocyten.

Die Mittelwerte bei Pipette I und II betrugen — angegebene Zahlen umfassen Werte von gesunden und kranken Menschen beiderlei Geschlechtes zusammen — da ja nur Fehlerquellen festgestellt werden sollten —:

	PI	PII		PI	PII
1.	3,10	2,74	13.	4,50	5,17
2.	3,35	3,14	14.	3,76	4,05
3.	4,20	3,93	15.	4,52	4,65
4.	4,71	4,74	16.	4,17	4,71
5.	5,42	4,83	17.	2,98	2,84
6.	3,31	3,49	18.	3,36	3,31
7.	4,13	5,10	19.	4,53	4,49
8.	3,78	4,23	20.	3,80	3,90
9.	3,88	3,78	21.	2,12	2,17
10.	3,89	4,20	22.	3,39	3,57
11.	4,56	4,63	23.	4,23	4,86
12.	4,28	4,23	24.	3,76	3,59

	P I	P II		P I	P II
25.	4,08	3,65	63.	4,20	4,03
26.	5,17	4,77	64.	3,50	4,10
27.	3,52	3,35	65.	4,74	4,78
28.	3,38	4,00	66.	4,43	4,25
29.	4,78	5,16	67.	5,47	4,81
30.	4,80	4,90	68.	4,30	4,12
31.	3,95	4,01	69.	4,36	4,32
32.	3,57	3,66	70.	5,12	5,10
33.	3,47	3,98	71.	3,81	4,01
34.	4,62	4,16	72.	3,83	3,54
35.	4,09	3,86	73.	3,74	3,76
36.	3,43	3,50	74.	4,49	4,72
37.	4,36	3,98	75.	3,45	3,87
38.	5,12	4,99	76.	4,11	4,20
39.	5,01	4,74	77.	3,94	3,87
40.	4,72	4,86	78.	4,45	4,67
41.	4,41	4,05	79.	4,27	4,55
42.	4,56	4,05	80.	4,59	3,69
43.	4,07	4,10	81.	4,58	3,38
44.	4,12	4,18	82.	4,66	4,21
45.	4,19	4,24	83.	3,94	3,92
46.	5,29	4,04	84.	4,71	4,19
47.	4,03	3,98	85.	5,54	4,34
48.	4,11	3,99	86.	4,17	3,97
49.	3,04	4,37	87.	4,29	4,09
50.	4,89	4,44	88.	3,62	3,97
51.	3,79	3,73	89.	4,59	4,35
52.	3,89	3,79	90.	4,25	4,38
53.	3,88	3,73	91.	4,96	5,09
54.	4,44	4,48	92.	5,01	4,87
55.	4,10	3,50	93.	4,09	4,04
56.	4,00	4,45	94.	5,31	4,42
57.	3,77	4,22	95.	5,14	5,17
58.	4,23	4,29	96.	3,91	3,71
59.	4,25	4,40	97.	4,37	4,02
60.	1,24	1,08	98.	4,38	4,65
61.	3,78	3,73	99.	3,26	3,03
62.	3,80	3,14			

Die Differenz zwischen den beiden Mittelwerten von Pipette I und Pipette II ergab nun folgende Reihe:

— 1,3	— 1,2	— 1,1	— 1,0	— 0,9	— 0,8	— 0,7	— 0,6	— 0,5
1	0	0	1	0	1	3	3	

−0,5	−0,4	−0,3	−0,2	−0,1	0	+0,1	+0,2	+0,3
4	3	4	8	17	13	14	8	

+0,3	+0,4	+0,5	+0,6	+0,7	+0,8	+0,9	+1,0	+1,1
5	4	4	2	0	2			

+1,1	+1,2	+1,3
	2	

Die obere Reihe gibt die Differenz in Millionen Erythrocyten an, die untere Reihe die Anzahl der Fälle.
Oder die Reihe aufgestellt ohne Rücksicht auf positive und negative Schwankungen:

0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3
30	22	12	8	8	7	5	1	2	0	0	0	2	

Im Vergleich zu den beiden vorhergehenden Reihen, welche die Differenzen innerhalb der gleichen Pipette angaben, zeigt die neue Reihe die Differenzen zwischen zwei verschiedenen Pipetten bei der gleichen Person.

Im Gegensatz zu den beiden vorherigen Reihen fällt sofort die große Unregelmäßigkeit innerhalb der Reihe auf. Ferner sind viel höhere Abweichungen, bis zu 1,3 Millionen — vorher 600.000 — Erythrocyten vorhanden. Rechnet man die Fehlergrenze beim mehrmaligen Auszählen ein und derselben Pipette bis zu 600.000, besser 500.000 Erythrocyten, so bleiben hier bei der Vergleichszählung mit einer 2. Pipette immer noch 600.000 bzw. 700.000 Erythrocyten übrig, die grobe Fehlerquellen trotz aller Sorgfalt darstellen.

Fragen wir uns nun, wodurch die höheren Fehlergrenzen und -quellen bis 0,9 Millionen bedingt sein mögen. Naegeli sagt in seinem Werke: „Blutkrankheiten und Blutdiagnostik“ einmal: „Es läßt sich zeigen, daß die Hauptfehler bei nacheinander vorgenommenen und nicht übereinstimmenden Ergebnissen von Hb-, Ery- und Leukocytenbestimmungen nicht durch die Instrumente, sondern durch die Blutentnahme bedingt sind.“ Diesen Satz sehen wir durch die obigen Untersuchungen und Aufstellungen der Differenzreihen voll bestätigt. Die Hauptfehlerquellen entstehen bei der Abnahme und besonders auch beim Aufsaugen der Blutsäule und nachher der Hayemschen Lösung bis zu den einzelnen Markierungen. Ist es doch fast ein Ding der Unmöglichkeit, auf Bruchteile von Millimetern die Markierungen einzuhalten. Kleinere Fehler entstehen beim Füllen der Kammer. Vielleicht ist

eine Fehlerquelle auch dadurch gegeben, daß bei der Pipette I der erste Blutstropfen nach dem Einstich, bei Pipette II der zweite Blutstropfen zur Verwendung kam, obwohl ein regelmäßiges Überwiegen der Erythrocytenzahl der Pipette I oder Pipette II nicht festgestellt werden konnte. Eine weitere Fehlerquelle mag auch sein, daß zwei verschiedene Pipetten verwendet wurden, was leider nicht zu umgehen war.

Der Mittelwert der Differenzen der beiden Durchschnittswerte von Pipette I und Pipette II beträgt + 0,0404 Millionen Erythrocyten, ist also fast gleich dem Mittelwert der Differenzen in den einzelnen Pipetten. Die Standardabweichung und somit die Fehlergrenze ist wie nicht anders zu erwarten, bedeutend höher als bei den vorherigen Fällen (0,4343 Millionen Erythrocyten gegen 0,219—0,225 Millionen).

Bei der Berechnung eines Färbe-Index sollte immer eine doppelte Zählung vorgenommen werden und zwar durch Abnahme von zwei Mal Erythrocyten mit verschiedenen Pipetten, um grobe Fehler sofort erkennen und ausschalten zu können. Bei der Berechnung der Färbeindices wurden selbstverständlich die Fälle mit den hohen Abweichungen ausgeschaltet.

Um auch bei der zur Berechnung des F.-I. notwendigen Hb-Bestimmung eine Kontrolle zu haben und nach Möglichkeit voneinander unabhängige und genaue Werte zu finden, wurde mit zwei verschiedenen Hämoglobinapparaten gearbeitet. Die Versuche wurden vorgenommen mit dem neuen Farbstoff Hämometer Modell Leitz Berlin und dem Zeiß-Ikon-Hämometer nach Professor Dr. Rostoski (Dresden).

Bei dem Leitzschen Hämometer wird als Norm ein Gehalt von 14 Gramm Oxyhämoglobin in 100 ccm Blut angenommen. Zum Unterschied vom Sahlischen Apparat sind zwei Vergleichsfarbstäbe vorhanden, die chemisch und aktinisch absolut unveränderlich sein sollen im Gegensatz zu den früher üblichen Vergleichsflüssigkeiten, deren Farbe mit der Zeit blasser wurde. Der Farbton ist dem salzsauren Hämatin angepaßt. Ein Einfallen von Seitenlicht ist beim neuen Apparat unmöglich. Als besonderer Vorteil wird in dem Werbeprospekt der Fabrik erwähnt, daß gleichzeitig in einem Arbeitsgang die Bestimmung des reinen Hämoglobingehaltes im Blute sowie die Bestimmung der normalen Hämoglobinprozente möglich ist. Deshalb besitzt das Meßröhrchen zwei Skalen, eine schwarze, die den Prozentgehalt an Hämoglobin bedeutet und eine rote Skala, die angibt, wieviel Gramm Hämoglobin in 100 ccm des untersuchten Blutes enthalten sind. Vom Ausblasen des Blutes in die Salzsäurelösung bis zur Schlußablesung dürfen höchstens zwei Minuten vergehen.

Der Zeiß-Ikon-Hämometer gibt als Norm 16 Gramm Hämoglobin in 100 ccm Blut an. Für die Bestimmung wird Blut mit 0,1 n Salzsäure in einer Pipette gemischt und in einen Glastrog gegeben. Als Vergleich dient ein Gelatinerundkeil, der auf einer

Scheibe aufgetragen ist und an dem Trog mit der Hämatinlösung durch eine Schraube vorbeigeführt wird. Die Betrachtung erfolgt durch eine Lupe. Die Vergleichsfarbe ist eine Mischung von Farbstoffen, der Farbe des salzsauren Hämatins. Der Hämometer wird mit einer Prozent- oder einer Grammskala geliefert. Bei den Versuchen wurde die Grammskala benutzt. Eine Umrechnungstabelle für Prozente in Gramm und umgekehrt liegt jedem Apparat bei. Die Ablesung soll nach fünf Minuten erfolgen.

Die Unterschiedlichkeit der Vergleichsfärbung bei den beiden Apparaten (Hämoglobin bei Rostoskis Apparat und Oxyhämoglobin bei dem Leitzschen Apparat) dürfte beim praktischen Vergleich der Apparate nicht ins Gewicht fallen, da ja beide 100% Hämoglobin für den Menschen als Norm annehmen.

Das Material wurde aus der Fingerkuppe gewonnen. Die Ablesung der gefundenen Werte erfolgte bei beiden Apparaten nach fünf Minuten. Für den Leitzschen Apparat schreibt zwar die Firma zwei Minuten vor, aber schon Naegeli verlangt fünf Minuten, da um diese Zeit die Kurve der Hämatinbildung nicht mehr so steil verläuft.

Zunächst wurde eine Hämoglobinbestimmung in Prozent mit den beiden Apparaten vorgenommen und zwar wurden die gefundenen Werte getrennt nach gesunden Männern und gesunden Frauen. Die Prozentbestimmung mit dem Leitzschen Apparat — die Prozentzahl wurde direkt an der Skala abgelesen — ergab folgende Resultate:

bei gesunden Männern:

71%	72%	73%	74%	79%	80%	81%	82%	75%	76%	77%
1	0	0	0	2	3	0	0	1	0	2

78%	83%	84%	85%	86%	87%	88%	89%	90%	91%	92%
3	1	1	5	0	1	2	2	4	4	3

93%	94%	95%	96%	97%	98%	99%	100%	101%	102%
1	10	3	2	1	0	1	2	0	1

Die Zahlen in der ersten Reihe geben die Prozente an, die Zahlen der jeweiligen zweiten Reihe ergeben die Anzahl der Fälle. Die Reihe zeigt eine große Schwankungsbreite (bei 47 Fällen 71% bis 103%) und ist höher als die von Schulten bei 17 Fällen angegebenen (80% bis 93%). Schulten ist der Meinung, daß bei Untersuchung eines größeren Materials vereinzelte Werte noch aus der Reihe herausfallen dürften. Dies ist bei unserem Material der Fall. Leider hat Schulten die Zeit der Ablesung der Werte nicht angegeben, da diese ja bekanntlich auch eine Rolle spielt.

Bei gesunden Frauen fanden wir die folgenden Werte:

69%	70%	71%	72%	73%	74%	75%	76%	77%	78%	79%	80%
1	0	0	1	0	0	1	0	1	2	3	4

81%	82%	83%	84%	85%	86%	87%	88%	89%	90%	91%	92%
2	0	1	1	2	1	0	0	1	2	0	0

93%	94%	95%
0	0	1

Die Schwankungsbreite beträgt also 69—95%, die Werte liegen tiefer als bei den Männern. Die untere Grenze deckt sich mit der von Schulten bei 15 Fällen angegebenen (69%), die obere Grenze ist dagegen höher (95%) gegen 87% von Schulten.

Mit dem Apparat von Rostoski wurden die folgenden Werte in % gefunden; die Ablesung erfolgte bei diesem Apparate in Gramm und die so gefundenen Werte wurden nach der beigegebenen Umrechnungstabelle in Prozente umgerechnet.

Werte bei gesunden Männern:

79%	80%	81%	82%	83%	84%	85%	86%	87%	88%	89%	90%
1	0	0	1	0	0	1	2	0	2	3	0

91%	92%	93%	94%	95%	96%	97%	98%	99%	100%	101%	102%
1	3	4	2	5	3	1	3	2	2	1	4

103%	104%	105%	106%	107%	108%	109%	110%
3	2	0	0	0	0	0	1

Die Schwankungsbreite beträgt also zwischen 79 bis 110%. Vergleichswerte sind in der Literatur nicht zu finden.

Bei gesunden Frauen:

74%	75%	76%	77%	78%	79%	80%	81%	82%	83%	84%	85%
1	0	0	0	1	2	2	2	0	1	1	0

86%	87%	88%	89%	90%	91%	92%	93%	94%	95%	96%	97%
4	0	7	2	3	0	0	0	0	1	0	0

98%	99%	100%	101%	102%	103%	104%
0	0	0	0	0	0	1

Schwankungsbreite liegt zwischen 74% und 104%. Vergleichsliteratur ist ebenfalls nicht vorhanden.

Wir fanden hier ähnlich wie beim Sahli-Apparat, daß die Frauen niedrigere Werte aufweisen als die Männer. Ein Unterschied besteht aber bei den beiden Apparaten: Die mit dem Rostoski-Apparat gewonnenen Werte liegen sowohl bei den Frauen wie bei den Männern höher als bei dem Sahli-Seitz-Apparat. Daß der Rostoski-Apparat fast stets höhere Werte liefert als der Sahli, sehen wir auch bei der Prozentbestimmung bei ausgebluteten Kranken:

Gefundene Werte mit Sahli:	mit Rostoski-Apparat:
62%	64%
62%	64%
29%	31%
62%	65%

Für beide Apparate wurden nun die Mittelwerte und die Standardabweichungen berechnet, um dadurch noch schärfere Vergleichsmöglichkeiten herauszuarbeiten. Die Berechnung ergab folgende Werte:

	bei Rostoski		bei Leitz	
	Mittelwert	Standardabwchg.	Mittelwert	Standardabwchg.
gesunde Männer:	95,2 %	6,322%	87,8 %	7,385 %
gesunde Frauen:	85,85%	5,79 %	80,54%	7,7787%

Der Mittelwert ist wie erwartet beim Rostoski-Apparat für Frauen und Männer höher als beim Sahli-Apparat. Schulten gibt nach einer Bestimmung mit dem Leitz-Apparat einen Durchschnittswert für Männer ungefähr mit obigem Resultat übereinstimmend (86%), für Frauen dagegen einen niedrigeren von 70% an.

Da mit dem Rostoski-Apparat stets höhere Endwerte gefunden wurden, haben wir, um festzustellen, ob der Rostoski-Apparat bei jeder Ablesung den höheren Wert anzeigte, die Differenzen hinsichtlich der Prozentzahl zwischen den beiden Apparaten bestimmt. Als Ausgangspunkt wurde der Rostoski-Apparat angenommen. Es ergaben sich nun die folgenden Reihen getrennt nach gesunden Männern und Frauen:

Gesunde Männer:

−5	−4	−3	−2	−1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6
1	1	1	1	1	0	4	1	2	2	5	3

+7	+8	+9	+10	+11	+12	+13	+14	+15	+16	+17
2	4	4	2	1	2	3	0	1	0	3

+18	+19	+20	+21	+22	+23	+24	+25	(47 Fälle)
2	0	0	0	0	0	0	1	

bei den Frauen:

−5	−4	−3	−2	−1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6
0	1	1	0	1	2	2	2	2	3	3	0

+7	+8	+9	+10	+11	+12	+13	+14	+15	+16
1	2	3	1	0	1	1	0	0	0

+17	+18	+19	(27 Fälle)
0	0	1	

Die Schwankungsbreite beträgt — 5 und + 19 bis + 25% bei den beiden Apparaten.
Die Mittelwert- und Standardabweichungsberechnung der Differenzen ergab die folgenden Werte:

	Mittelwert	Standardabweichung
gesunde Männer:	+ 7,4%	6,3311%
gesunde Frauen:	+ 5 %	5,088 %

Eine Zusammenfassung von 107 Fällen erbrachte als Differenz zwischen den beiden Apparaten folgende Reihe:

— 9	— 8	— 7	— 6	— 5	— 4	— 3	— 2	— 1	0	+ 1	+ 2
2	0	0	0	1	2	5	1	3	2	5	8

+ 3	+ 4	+ 5	+ 6	+ 7	+ 8	+ 9	+ 10	+ 11	+ 12	+ 13
8	11	9	3	3	9	6	7	3	4	5

+ 14	+ 15	+ 16	+ 17	+ 18	+ 19	+ 20	+ 21	+ 22
0	2	0	2	3	1	1	0	0

+ 23	+ 24	(107 Fälle)
0	1	

Der Mittelwert der Reihe ist + 6%;
Die Standardabweichung + 6,135%.

Die Berechnungen zeigen, daß bei 107 Fällen nur in 14 Fällen der Leitz-Apparat eine höhere Prozentzahl (Differenz nur bis — 9), zwei Mal die gleiche Prozentzahl, in den übrigen Fällen also stets der Rostoski-Apparat die höheren Prozente und zwar bis 24% Differenz angab.

Der Apparat nach Leitz, der 14 Gramm Oxyhämoglobin = 100% geeicht ist, zeigt einen niedereren Prozentgehalt an, als der Apparat Rostoskis, der auf 16 Gramm Hämoglobin geeicht ist. Der Unterschied liegt nicht allein in der Eichung auf Hämoglobin und Oxyhämoglobin; bei dem Leitzschen Apparat muß schon innerhalb des Apparates eine Fehlerquelle für die Prozentbestimmung und somit für die Färbe-Indexbestimmung liegen, vielleicht hervorgerufen durch die Farbe der Vergleichsstäbe. Mit den beiden Hb-Apparaten wurde fernerhin eine Bestimmung nach dem Hämoglobingehalt in Gramm in 100 ccm Blut vorgenommen, um eine Färbeindexbestimung durchführen zu können, die nach Büttner „jeder wissenschaftlichen Kritik standhält", nämlich die Berechnung von g Hb des einzelnen Erythrocyten. Bei beiden Apparaten wurden die Grammwerte durch direktes Ablesen an einer Skala gewonnen. Eine Umrechnung erübrigt sich also in diesem Fall. Bei dem Leitzschen Hämoglobinometer wurden bei gesunden Männern die nachstehenden Resultate gewonnen:

9,9	10,0	10,1	10,2	10,3	10,4	10,5	10,6	10,7	10,8	10,9
1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	3
11,0	11,1	11,2	11,3	11,4	11,5	11,6	11,7	11,8	11,9	12,0
2	0	3	0	0	0	1	0	1	5	0
12,1	12,2	12,3	12,4	12,5	12,6	12,7	12,8	12,9	13,0	13,1
0	1	2	0	2	4	4	0	3	1	1
13,2	13,3	13,4	13,5	13,6	13,7	13,8	13,9	14,0	14,1	14,2
0	3	2	1	0	0	0	1	2	0	0
14,3	14,4	14,5	(47 Fälle)							
1	0	0								

Die Schwankungsbreite erstreckt sich von 9,9—14,3 Gramm.

Bei gesunden Frauen lasen wir folgende Werte ab:

9,7	9,8	9,9	10,0	10,1	10,2	10,3	10,4	10,5	10,6	10,7
1	0	0	0	1	0	0	0	5	0	0
10,8	10,9	11,0	11,1	11,2	11,3	11,4	11,5	11,6	11,7	11,8
1	2	0	3	4	2	0	0	1	0	1
11,9	12,0	12,1	12,2	12,3	12,4	12,5	12,6	12,7	12,8	12,9
2	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0
13,0	13,1	13,2	13,3	(28 Fälle)						
0	0	0	1							

Die Schwankungsbreite beträgt 9,7—13,3 Gramm, ist also niedriger als bei Männern (9,9 bis 14,3 g).

Mit dem Rostoski-Apparat wurden ebenfalls dieselben Bestimmungen durchgeführt und folgende Werte gefunden:

a) bei gesunden Männern:

12,6	12,7	12,8	12,9	13,0	13,1	13,2	13,3	13,4	13,5	13,6
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
13,7	13,8	13,9	14,0	14,1	14,2	14,3	14,4	14,5	14,6	14,7
2	0	0	2	0	2	1	0	1	2	1
14,8	14,9	15,0	15,1	15,2	15,3	15,4	15,5	15,6	15,7	15,8
4	0	2	0	5	0	3	1	3	0	2
15,9	16,0	16,1	16,2	16,3	16,4	16,5	16,6	16,7	16,8	16,9
1	1	0	2	3	2	1	2	0	0	0
17,0	17,1	17,2	17,3	17,4	17,5	17,6	17,7	17,8		
0	0	0	0	0	0	1	0	0		

(47 Fälle)

Die Schwankungsbreite beträgt 12,6—17,6 Gramm und ist bedeudent höher als beim Sahli-Apparat (9,9—14,3 g).

b) bei gesunden Frauen:

11,8	11,9	12,0	12,1	12,2	12,3	12,4	12,5	12,6	12,7	12,8
1	0	0	0	0	0	1	0	2	1	1
12,9	13,0	13,1	13,2	13,3	13,4	13,5	13,6	13,7	13,8	13,9
0	2	1	0	1	0	0	0	1	3	0
14,0	14,1	14,2	14,3	14,4	14,5	14,6	14,7	14,8	14,9	15,0
6	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0
15,1	15,2	15,3	15,4	15,5	15,6	15,7	15,8	15,9	16,0	16,1
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16,2	16,3	16,4	16,5	16,6						
0	0	0	0	1	(27 Fälle					

Die Schwankungsbreite liegt hier zwischen 11,8 und 16,6 Gramm und ist ebenfalls höher als bei den Werten nach Sahli (9,9 bis 14,3 g).
Die Mittelwerte und die Standardabweichungen nach diesen Reihen betragen:

bei dem Rostoski-Apparat		bei dem Leitz-Apparat	
Mittelwerte:	Standardabw.:	Mittelwerte:	Standardabw.:
15,22 g	0,96168	12,29	1,0358
13,71 g	0,9403	11,29	0,8013

Die Mittelwerte bei der Grammbestimmung ergeben beim Rostoski-Apparat wie schon bei der Prozentbestimmung die höheren Werte.
Die Schwankungsbreite ist auch hier bei den Frauen und Männern höher als beim Sahli-Apparat. Die Standardabweichung ist ausgeglichener. Vergleichen wir die gefundenen Werte mit den in der Literatur angegebenen, so gibt Bürker für die Grammbestimmung bei gesunden Erwachsenen 14—18 Gramm und Schwankungen je nach Lebensalter zwischen 10 bis 24 Gramm an. Die Bestimmung wurde vorgenommen mit dem Bürker-Apparat. Büttener fand Werte — bestimmt nach Sahli-Leitz und Bürker — für Männer als Mittel 16 g, für Frauen 13,7 g.

Schmoll gibt für die Frau 13,7 g und eine Variationsbreite von 11,81 bis 15,35 g an.

Horneffer erhält an zwanzig Studenten eine Variationsbreite von 15,21 bis 17,51 g.

Bei unseren Versuchen ergab die Bestimmung mit dem Leitz-Apparat niedrigere Werte als die oben angegebenen, während die mit dem Rostoski-Apparat gefundenen Hb-Werte mit denen der Literatur sich ungefähr decken.

Diese Schwankungsbreiten der Hb-Bestimmungen machen sich selbstverständlich bei der Färbeindex-Berechnung bemerkbar und erhöhten die Fehlergrenzen.

Die Färbeindexbestimmung ist demnach stark abhängig von den dazu verwandten Apparaten und von den Fehlerquellen, die in den Apparaten selber liegen, und von den Fehlergrenzen bei der Hb-Bestimmung selbst.

Im Folgenden sei eine Färbeindexbestimmung dargestellt, die sich mit den beiden Apparaten ergab nach Ausschluß der groben Fehlerquellen bei der Erythrocytenzählung und Hämoglobinbestimmung. Die Bestimmung wurde vorgenommen nach der Formel $\frac{\text{Zahl der Erythrocyten}}{g\,\%}$ d. h., es wurde das g-Hb des einzelnen Erythrocyten berechnet.

Es ergaben sich folgende Werte der F.-I.-Bestimmung mit dem Leitzschen Apparat bei gesunden Männern:

FI:	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	(47 Fälle)
	1	1	7	5	10	6	7	5	2	1	1	1	

Schwankungsbreite beträgt: **23 bis 34.** Die Zahlen sind nach dem Vorschlag Büttners abgekürzt geschrieben, also z. B. nicht 32 mal 10^{-12}, sondern Färbeindex = 32.

Bei gesunden Frauen fanden sich folgende Werte:

23	24	25	26	27	28	29	(28 Fälle)
1	1	5	7	5	5	4	

Die Schwankungsbreite liegt zwischen 23 bis 29. Die untere Grenze deckt sich mit der bei den Männern, die obere Grenze ist bedeutend niedriger.

Mit dem Rostoski-Apparat konnten wir bei gesunden Männern folgende F.-I.-Reihe aufstellen:

29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	(47 Fälle)
1	0	3	9	8	8	10	2	1	2	0	2	1	

Schwankungsbreite beträgt 29 bis 41. Sowohl die untere als auch die obere Grenze ist höher als bei den mit dem Leitzschen Apparat gefundenen Werten (23—34).

Bei gesunden Frauen verläuft die F.-I.-Kurve mit den Hb-Werten nach Rostoski berechnet wie folgt:

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	(28
1	0	0	1	4	5	7	1	5	0	0	2	1	0	1	Fälle)

Die Schwankungsbreite liegt zwischen 26 und 40. Dieser Färbeindex ist also niedriger als der bei den Männern, bei denen der F.-I. mit dem Rostoski-Apparat bestimmt wurde, aber höher als bei den Männern, bei denen die Werte mit dem Leitzschen Apparat gefunden wurden (23 bis 24).

Gegenüber den Färbeindexwerten bei Frauen bestimmt mit dem Leitzschen Apparat (23 bis 29) sind obige F.-I.-Zahlen bedeutend

höher. Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Färbeindexbestimmung mit beiden Apparaten bei Männern höhere Werte ergibt als bei den Frauen, und daß die Werte, die mit dem Rostoski-Apparat gefunden wurden, bei Männern und Frauen immer größer sind als bei der Bestimmung nach der Sahli-Methode.

Die Berechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung der gefundenen Färberindexe liefert folgende Werte:

	Rostoski		Leitz	
	Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.
gesunde Männer:				
	34	2,422	27	2,3063
gesunde Frauen:				
	32	2,8723	26	1,584

Wie nicht anders zu erwarten, liegen die Mittelwerte bedeutend höher als die Mittelwerte mit dem Sahli-Apparat.

Büttner fand nach der Bürker-Methode einen Färbeindex beim Manne 31 bis 33 im Durchschnitt 32, bei der Frau 29 bis 31, im Durchschnitt 30. Unsere Bestimmungen des F.-I. mit dem Rostoski-Apparat zeigen weitgehende Übereinstimmung mit den in der Literatur veröffentlichten Resultaten, während wir bei der Verwendung des Leitz-Apparates bedeutend niedrigere Werte erhielten. Schulten betonte, daß die Geschlechtsunterschiede gering, wenn überhaupt vorhanden seien. Die Differenzen der Färbe-Indices zwischen Männern und Frauen, bestimmt mit beiden HB-Apparaten, treten so regelmäßig auf, daß wir doch einen Geschlechtsunterschied beim Färbe-Index als vorhanden annehmen möchten.

Bestimmt man den Färbe-Index nach der Methode $\frac{\text{Hämoglobin \%}}{2 \times \text{Erythrocytenzahl}}$ so verläuft die Kurve der F.-I.-Berechnung, berechnet aus den Sahli-Hb-Bestimmungen, wie folgt:

a) bei gesunden Männern:

0,87	0,90	0,91	0,92	0,93	0,95	0,96	0,97	0,98	0,99	1,0
1	3	1	1	2	3	3	6	7	3	3

1,01	1,03	1,05	1,06	1,07	1,13	1,14	1,19	1,25	
1	2	3	3	1	1	1	1	1	(47) Fälle)

b) bei gesunden Frauen:

0,82	0,87	0,91	0,92	0,93	0,94	0,95	0,96	0,97	0,98	0,99
1	1	4	0	2	1	2	1	1	4	3

1,0	1,01	1,02	1,03	1,04	1,05	1,06	
3	1	1	0	0	2	1	(28 Fälle)

Die Schwankungsbreite liegt mit 0,82 bis 1,06 niedriger als bei den Männern, bei denen wir eine Schwankung zwischen 0,87 und 1,25 erhalten. Die F.-I.-Bestimmung beim Arbeiten mit dem Rostoski-Apparat liefert die folgenden Reihen:

a) bei gesunden Männern:

0,94	0,95	0,96	0,97	0,98	0,99	1,0	1,01	1,02	1,03	1,04
1	1	0	2	1	0	3	1	2	6	1
1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,1	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15
4	3	4	3	2	0	2	2	2	0	2
1,2	1,21	1,26	1,27	1,31	(47 Fälle)					
1	1	1	1	1						

Schwankungswerte 0,94 bis 1,31; auch diese F.-I.-Werte sind höher als die, welche mit dem Leitzschen Apparat gefunden wurden; das gleiche Resultat finden wir bei

b) gesunden Frauen:

0,82	0,95	0,98	0,99	1,0	1,01	1,02	1,03	1,04	1,05	1,06
1	2	2	2	2	2	1	4	1	2	0
1,07	1,08	1,09	1,1	1,14	1,16	1,26	(28 Fälle)			
2	2	1	1	1	1	1				

Die untere Grenze deckt sich hier mit der nach der Leitzschen Bestimmung gefundenen. Die obere Grenze liegt dagegen bedeutend höher.

Die Mittelwert- und Standardberechnung ergab unter Zugrundelegung

	des Leitz-Apparates		des Rostoski-Apparates	
	Mittelw.	Standardabw.	Mittelw.	Standardabw.
gesunde Männer:	0,992	0,078	1,0727	0,07918
gesunde Frauen:	0,96	0,0574	1,036	0,0777

also bei Benutzung des Rostoskischen Hb-Apparates wie zu erwarten die höheren Mittelwerte, während die beiden Standardabweichungen beide Male nicht wesentlich verschieden ausfallen.

Die Vergleiche bei der Färbeindexbestimmung mittels der beiden Apparate zeigten, daß die bis jetzt am meisten angewandte Hämoglobinbestimmung zum Zwecke der F.-I.-Bestimmung (Sahli-Leitz-Prinzip) grobe Fehlerquellen schon in der Maßeinheit (**14 Gramm = 100%**) enthält und den neuen Vorschlägen für Eichung der Hb-Apparate in keinem Falle entspricht. Sie sollte für eine wissenschaftliche Hämoglobin- und F.-I.-Bestimmung nicht mehr in Frage kommen. Der Rostoski-Apparat entspricht wenigstens den neuen Bestimmungen über die Maßeinheiten (16 Gramm = 100%) und dürfte für die Übergangszeit bis zum Erscheinen der neuen Apparate, die nach den Vorschriften der

Gesellschaft für Innere Medizin geeicht sein werden, als Ersatzinstrument in Frage kommen. Dabei ist zu beachten, daß die mit diesem Apparat gewonnenen Resultate sowohl bei der Gramm-, Prozent- als auch Färbe-Index-Bestimmung höher liegen als die bisher mit dem Leitzschen Hämoglobinometer in der Praxis gewonnenen Zahlen.

Zusammenfassung.

Es wurde über vorhandene Fehlergrenzen und -quellen bei der Färbeindexbestimmung berichtet. Dabei wurde festgestellt, daß schon bei der Erythrocytenzählung zahlreiche Fehler unterlaufen. Es konnte gezeigt werden, daß beim Vergleich der Erythrocytenzählung aus zwei verschiedenen Pipetten die Fehlergrenze doppelt so hoch liegt wie bei Zählungen aus der gleichen Pipette. Die Mittelwerte und Standardabweichungen bei diesen Werten wurden berechnet und besprochen. Es wurde angenommen, daß die Hauptfehler bei nicht übereinstimmenden Ergebnissen der Erythrocytenzählung nicht so sehr durch die Instrumente, sondern vor allem durch deren Handhabung bedingt sind. Ferner wurden noch kleinere Fehlerquellen besprochen. Es wird die Forderung aufgestellt, für eine genauere Färbeindexbestimmung immer mit zwei Pipetten zur Kontrolle der Erythrocytenwerte zu arbeiten. Außerdem wurde eine vergleichende Hb-Bestimmung mit dem Rostoski- und dem Leitz-Hämometer vorgenommen. Die mit den beiden Apparaten gefundenen Werte in Prozent und Gramm wurden unter sich und mit denen in der Literatur veröffentlichten Werten verglichen. Es fand sich, daß der Rostoski-Apparat stets höhere Werte lieferte als der Leitz-Apparat. Es wurde gezeigt, daß die Färbeindexbestimmung stark abhängig ist von den dabei verwandten Hb-Apparaten und daß Fehlerquellen der Färbeindexbestimmung in den Apparaten selbst schon liegen. Besonders ist der Leitz-Apparat schon durch seine Eichung nicht mehr geeignet, für eine exakte Hb- und damit F.-I.-Bestimmung verwandt zu werden. Bis zum Erscheinen der nach der Vorschrift der Gesellschaft für Innere Medizin geeichten Apparate wird der Rostoski zum Gebrauch empfohlen.

Am Schlusse der Arbeit sage ich Herrn Dr. Schöne für die freundliche Überlassung des Themas und für die Anregungen beim Verarbeiten des Materials meinen besten Dank.

Literaturnachweis.

Bohnekamp: Verh. Deutsch. inn. Med. Wiesbaden 1934/371.

Bürker: Verh. deutsch. Ges. Kreislaufforschung, 1930.

— Verh. deutsch. Ges. inn. Mediz. Wiesbaden 1934.

Büttner: Verhandl. deutsch. Gesellsch. inn. Med. Wiesbaden 1934/363.

Heilmeyer u. **Sundermann:** Deutsch. Arch. f. klin. Med. 178 Bd. 4. H.

Johannsen, W.: Elemente der exacten Erblichkeitslehre, 3. Aufl. Jena 1926.

Naegeli: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik.

Rostoki: Verhandl. deutsch. Gesellsch. inn. Med. Wiesbaden 1934/365.

Sahli: Untersuchungsmethoden. 7. Aufl. 1930.

Schilling: Verhandl. deutsch. Gesellsch. inn. Med. Wiesbaden 1934/371.

Schmall: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie. Bd. XVIII und VI.

Schulten: Münchn. med. Wchschr. 1933/1017.

— Verh. deutsch. Ges. inn. Med., Wiesbaden, 1933/118.

— Verh. deutsch. Ges. inn. Med., Wiesbaden, 1934/368.

— Dtsch. Arch. f. inn. Med. 178. Bd. 4. H.

Hiermit versichere ich ehrenwörtlich, daß ich außer dem angeführten Quellenmaterial keinerlei andere Unterlagen benutzt und die vorliegende Arbeit völlig selbständig verfaßt habe.

Lebenslauf.

Ich, Bernhard Siegler, wurde als Sohn des im Kriege gestorbenen praktischen Arztes Dr. med. Hans Siegler und seiner Ehefrau Maria, geb. Günther, am 10. Mai 1909 in Eschau, Unterfranken, geboren. Nach 4 Klassen Volksschule in Eschau und Würzburg besuchte ich 9 Jahre das humanistische „Alte Gymnasium" in Würzburg. Nach bestandenem Abitur 1928 besuchte ich 7 Semester die Universität Marburg, um Medizin zu studieren. Nach bestandenem Physikum 1931 siedelte ich nach Würzburg über und legte nach weiteren 5 Semestern daselbst das Medizinische Staatsexamen im Juli 1934 ab. Meine Medizinal-Praktikantenzeit verbrachte ich an der Medizinischen Poliklinik Würzburg und an der Universitäts-Frauenklinik in Würzburg. Am 1. August 1935 erhielt ich meine Approbation. Nach weiteren fünf Monaten Volontärassistentenzeit an der Medizinischen Poliklinik erhielt ich daselbst am 1. Januar 1936 eine a. o. Assistentenstelle.

Bernhard Siegler.